

Title	Role of endothelin receptor signalling in squamous cell carcinoma
Author(s)	石本, 俊介
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59261">https://hdl.handle.net/11094/59261</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【5】

氏 名	いし もと しゅん すけ 石 本 俊 介
博士の専攻分野の名称	博 士（歯学）
学 位 記 番 号	第 2 5 0 1 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	Role of endothelin receptor signalling in squamous cell carcinoma （扁平上皮癌におけるエンドセリン受容体シグナルの役割）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授 古郷 幹彦 （副査） 教 授 上崎 善規 准教授 前田 隆史 講 師 中澤 光博

## 【目的】

エンドセリン(ET)は血管内皮細胞由来のペプチドで、その受容体と結合し強力な血管収縮を引き起こすことで、肺高血圧・心不全・腎不全といった病態発症に関わっていることが指摘されている。最近の研究で、ET受容体(ET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>)が肺癌や皮膚癌の腫瘍部位において高発現していることが報告されたが、扁平上皮癌に関する報告は非常に少ない。我々はこれまでの扁平上皮癌細胞を用いたDNA microarrayによる遺伝子変化の網羅的解析から、ET受容体遺伝子が細胞増殖と連動して変化していることを見出した。そこで、扁平上皮癌におけるET受容体の発現と受容体シグナルの役割について検討した。

## 【方法】

倫理委員会の承認後にインフォームドコンセントを行ったのち、大阪大学歯学部附属病院口腔外科1(制御系)で外科的切除を行った舌扁平上皮癌症例を無作為に抽出し作製した組織切片を用いて、ET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>の免疫組織化学染色を行った。免疫染色の評価はダブルブラインドによりスコア化を行い、癌部と非癌部を比較検討した。

次に、培養細胞を用いた検討を行った。培養細胞は舌扁平上皮癌由来SAS、食道扁平上皮癌由来KYSE70、乳児正常口唇組織由来fibroblastを用いた。

- ① ET<sub>A</sub>拮抗薬BQ123およびET<sub>B</sub>拮抗薬BQ788処置を行い、蛍光顕微鏡による細胞骨格およびcell countによる細胞増殖の変化を検討した。また、ET受容体阻害による細胞増殖抑制のメカニズムを解明するため、mitogen-activated protein kinase (MAPK)経路の活性化についてwestern blotting法によるタンパク発現の変化を検討した。
- ② ET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>特異的small interfering RNA (siRNA)処置を行い、ET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>をノックダウンした後、細胞増殖・細胞形態・MAPK経路のタンパク発現の変化を検討した。
- ③ ET受容体阻害による癌治療への臨床応用として、既存の抗悪性腫瘍薬との併用による相乗効果の可能性を検討した。ET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>特異的siRNA処置を行った後、既存の抗悪性腫瘍薬であるcisplatinを作用させ、細胞増殖・細胞形態の変化を検討した。

## 【結果と考察】

ET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>は同一組織切片上の非癌部組織と比較し、癌部組織に有意な高発現を認めた。両者の発現の間には正の相関性も認められた。また、腫瘍分化型(高分化型・中等度分化型・低分化型)による発現強度の違いは、ET<sub>A</sub>では中等度分化型で他と比べ有意に高いのに対し、ET<sub>B</sub>では分化型の間に有意な差は認められなかった。

ET受容体拮抗薬処置により、培養癌細胞の形態変化と有意な細胞増殖の抑制を認めた。このとき、ET<sub>A</sub>およびET<sub>B</sub>タンパクの発現自体に変化は認められなかったが、MAPK経路活性化の指標であるリン酸化タンパク(p-MEKならびにp-Erk)のリン酸化タンパクの減少を認めた。さらに受容体特異的siRNA処置により、拮抗薬と同様に有意な細胞増殖の抑制と、MAPK経路のリン酸化タンパクの減少を認めた。癌細胞内では、細胞増殖や遊走を促進させる系が活性化しており、そのうちの一つにMAPK経路がある。扁平上皮癌細胞株において、focal adhesion kinase (FAK)はリン酸化されることにより細胞のアポトーシスを抑制し増殖を促進させることは知られているが、今回、FAKのリン酸化の抑制は認められなかった。しかしながら、MAPKの活性化が抑制されていることから、FAKを介さず直接MAPK経路を阻害することにより細胞増殖の抑制をもたらしたと考えられる。

ET受容体に対するsiRNAとcisplatinを併用したところ、siRNA単独あるいはcisplatin単独を処置したものと比較し、有意な細胞増殖の抑制を認めた。siRNAは細胞膜上の受容体をノックダウンしてMAPK経路を抑制する一方、cisplatinはDNAに直接作用しその複製を阻害することで癌細胞の増殖を抑制する。この両者の作用機序の違いにより、今回の扁平上皮癌細胞を用いた検討において相乗効果を発揮したと考えられる。一般に、癌の化学療法において、その副作用の最小化は臨床上非常に重要であることから、今回の結果はET受容体経路を阻害することで、抗癌剤の使用量を低減化し、副作用の軽減へとつながられる可能性を示唆するものである。

## 【結語】

扁平上皮癌組織、培養癌細胞においてET受容体が高発現していることを確認し、ET受容体ならびにそのシグナルが、細胞増殖とその形態維持に重要な役割を果たしていることを明らかにした。そのメカニズムは、MAPK経路の活性化を介して、癌細胞増殖に関わっているものと考えられる。ETシグナル経路は、扁平上皮癌治療の新たなターゲットになりうることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、舌扁平上皮癌の組織切片および培養癌細胞を用い、エンドセリン受容体について検討したものである。癌細胞においてエンドセリン受容体の高発現を認めた。また、エンドセリン受容体特異的siRNAとシスプラチンの併用処置による相乗効果を、in vitroの系で確認した。現在使用している抗癌剤とは異なった、エンドセリン受容体をターゲットとする新たな治療法の可能性を提示するとともに、本結果は今後の舌扁平上皮癌治療に関する研究に対し、有用な情報を提供し得るものである。

以上より、本研究は博士(歯学)を授与するに値すると認めるものである。